

酪酸を産生する腸内細菌とその利用に関する研究

著者	佐藤 直
発行年	2019
学位授与大学	筑波大学 (University of Tsukuba)
学位授与年度	2018
報告番号	12102甲第9082号
URL	http://hdl.handle.net/2241/00156867

氏名	佐藤 直		
学位の種類	博 士（ 農学 ）		
学位記番号	博 甲 第 9082 号		
学位授与年月日	平成 31年 3月 25日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	酪酸を産生する腸内細菌とその利用に関する研究		
主査	筑波大学教授	農学博士	小林 達彦
副査	筑波大学教授	博士（農学）	高谷 直樹
副査	筑波大学准教授	博士（工学）	橋本 義輝
副査	筑波大学助教	博士（農学）	熊野 匠人

論 文 の 要 旨

ヒト大腸内には数百から1,000種類以上の細菌が棲息しており、その数は約100兆個にも達することが知られている。食事に含まれる炭水化物は、一部が消化吸收を免れて難消化性糖質として下部消化管に到達し、腸内細菌によって利用され、酢酸やプロピオン酸、酪酸などの短鎖脂肪酸が生成する。特に、酪酸は大腸の主要なエネルギー源として利用されるだけでなく、大腸がん細胞の分化や免疫細胞の成熟誘導など、大腸で多くの有益な作用を示す。一方、腸内での酪酸産生菌は、炎症性腸疾患や肥満などの各種疾患により減少することが知られており、腸内の酪酸産生菌の生態およびその代謝特性を理解することは重要である。そこで著者は、ヒト由来の酪酸産生菌に注目し、その代謝特性を利用した酪酸産生の制御を解明することを目的とし研究を行った。本論文では、主として以下のことを明らかにしている。

1) 著者は、乳酸を酪酸へ代謝する特性をもつ腸内細菌を、ヒト糞便および既知の腸内細菌ライブラリーから探索した結果、*Anaerostipes caccae*、*Eubacterium hallii*、*E. limosum*、*Megasphaera elsdenii*および*Coprococcus catus*が本代謝活性を示すことを明らかにした。また、細菌の16S rRNA遺伝子を標的とする菌種特異的プライマーを用いた定量的PCR法により、これらの菌群のヒトにおける分布を調べ、これらの菌群が乳酸を酪酸に変換する主要な菌としてヒト腸内に存在することを明らかにした。

2) 著者は、ガラクトオリゴ糖（GOS）の存在下で、乳酸を酪酸に変換する活性を示した上述の5菌種と代表的なビフィズス菌である*Bifidobacterium breve* YIT 10001を共培養した結果、2菌の協働作用によってGOSから乳酸を介して酪酸が生成することが明らかとなった。また、ヒト糞便から分離した*A. caccae* YIT 12353 とGOSをラットに共投与した結果、腸内で内在性のビフィズス菌が増加するとともに酪酸の産生が亢進したことから、腸内でビフィズス菌と*A. caccae*との代謝協働によりGOSから酪酸が産生されたと考えられ、得られた以上の結果より、*A. caccae* YIT 12353とオリゴ糖との組み合わせは、腸内における酪酸産生を促進する新たな制御法として機能することを示した。

3) 著者は、酪酸産生の基質に着目し、乳酸を介さずに直接酪酸の産生を促進する難消化性糖質をヒト糞便培養系により探索した結果、GOSを含む各種難消化性糖質の中で、キシリトールだけでなくL-ソルボースも顕著に酪酸産生を促進することを明らかにした。また、培養液中の細菌叢を解析した結果、両基質からの酪酸の産生に伴って*Anaerostipes hadrus*および*A. caccae*に近縁な菌種が増加することを明らかにした。またL-ソルボースおよびキシリトールから酪酸を産生する菌として*A. hadrus* 2株をヒト糞便から分離した。これらの分離株を含む各種腸内細菌株を対象に、L-ソルボースおよびキシリトールの資化性を調べた結果、*Anaerostipes*属細菌 (*A. hadrus*および*A. caccae*) によって特異的に酪酸産生の基質として利用されることを解明した。以上の結果より、複雑な腸内細菌叢の中で、*Anaerostipes*属細菌という極めて限定された菌群の増殖および活性を促進する特性をL-ソルボースおよびキシリトールが有することが明らかとなった。

審 査 の 要 旨

食事に含まれる難消化性糖質は、下部消化管内で腸内細菌により嫌気発酵の基質として利用される。これら難消化性糖質の中には、機能性をもったプレバイオティクスが含まれる。オリゴ糖は一般的に良く知られたプレバイオティクスであり、腸内におけるビフィズス菌 (*Bifidobacterium*属細菌) の増殖を選択的に促進し、整腸作用などを発揮する。難消化性糖質の摂取は、腸内での本細菌および乳酸桿菌の割合を増加させると同時に、糞便中の短鎖脂肪酸の中で特に酪酸の濃度を高めることが示されている。しかしながら、これらの細菌は糖質から主として乳酸および酢酸を産生するものの、酪酸を産生する能力をもたない。腸内の酪酸産生菌の生態およびその代謝特性を理解することは基礎応用両面で重要である。そこで、ヒト腸管由来の酪酸産生菌に着目し、酪酸産生の制御に関する新しい知見を得るために研究が行われた。

本研究によって、*Anaerostipes caccae*、*Eubacterium hallii*、*E. limosum*、*Megasphaera elsdenii*および*Coprococcus catus*が乳酸を酪酸に変換する主要な菌としてヒト腸内に存在することが明らかになるとともに、*A. caccae* YIT 12353とオリゴ糖との組み合わせは、腸内における酪酸産生を制御し得る新たなシンバイオティクス (プロバイオティクスおよびプレバイオティクスの組み合わせ) として機能することが示された。さらに、複雑な腸内細菌叢の中で、*Anaerostipes*属細菌という極めて限定された菌群の増殖および活性を促進する特性をL-ソルボースおよびキシリトールが有することが明らかとなった。これら一連の知見は、腸内細菌叢の代謝特性を利用した大腸や全身性の疾患予防法の開発に貢献できると期待される。

以上のように、本研究の成果は、微生物生態学のみならず微生物生理学領域において大きく貢献するものと判定される。

平成31年 1月10日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士 (農学) の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。